

Pengaruh penambahan alpha tocopherol terhadap kualitas semen entog yang disimpan pada suhu dingin

Fitriani

Fakultas Peternakan Universitas Nusantara PGRI Kediri
Jl. K.H.Ahmad Dahlan No.76 Kediri

ipit.peternakan@gmail.com

ABSTRACT: The study was conducted to evaluate the effect alpha-tocopherol addition on the quality of muscovy duck semen during the storage process at 4 °C. The materials of the study were 4 male Muscovy ducks aged between 1.5 – 2.0 years old. Semen was collected twice a week and its quality was evaluated immediately after the collection. The collected semen was kept in refrigerator for 60, 120 and 180 minutes using a medium containing alpha-tocopherol 0; 0.2; 0.4 and 0.6 ppm. Then quality of the stored semen was evaluated. The study found that semen quality decreased during the storage process. The study concluded that addition of alpha-tocopherol was able to increase superoxide dismutase (SOD) activity and decrease the malondialdehyde (MDA).

Keywords: Muscovy duck semen, cold storage, alpha-tocopherol, SOD, MDA

PENDAHULUAN

Radikal bebas adalah molekul-molekul reaktif yang mempunyai elektron tidak berpasangan dan dapat merusak membrane sel, termasuk membrane lisosom, sehingga enzim lisosom menjadi bebas dan merusak bagian – bagian sel yang lain. Bila menerima hidrogen, radikal bebas menjadi tidak reaktif (Sunita, 2003). Untuk itu diperlukan bahan yang bisa melepaskan hidrogen untuk membuat radikal bebas tersebut menjadi tidak reaktif.

Alpha-tocopherol merupakan bahan yang mempunyai gugus fenol paling aktif menangkap perioksil radikal bebas dengan memberikan atom hidrogen bebasnya dari gugus hidroksil (OH) pada struktur cincin sebagai elektron yang akan ditangkap oleh radikal bebas sehingga menjadi radikal baru yang bersifat lebih stabil. Selain itu,

alpha-tocopherol merupakan satu komponen sistem antioksidan pemutus reaksi berantai yang berkelanjutan (*chain breaking antioxidant*) pada jaringan, eritrosit dan plasma pada semen. Alpha-tocopherol dalam membran sel akan mencegah perbanyakan reaksi radikal bebas pada fosfolipid (Linder, 1992; Ibrahim and Sakthisekaran, 1997). Alpha-tocopherol mempunyai efek untuk meningkatkan metabolisme pada jaringan testikuler dan menghasilkan proses spermatogenesis yang lebih baik untuk menghasilkan persentase semen dengan morfologi yang normal (Adisetya, dkk., 1978). Alpha-tocopherol yang larut dalam lemak merupakan antioksidan yang melindungi PUFA dan komponen sel serta membran sel dari oksida oleh radikal bebas (Packer, 1995).

Antioksidan terbagi menjadi antioksidan enzim dan vitamin (zat gizi). Antioksidan enzim meliputi superoksida

dismutase (SOD), katalase, glutathione dan glutathione peroksidase. Antioksidan vitamin meliputi vitamin E (alpha-tocopherol), beta karoten dan vitamin C (asam askorbat) (Haliwell and Gutteridge, 1999). Berdasarkan uraian di atas maka penelitian ini dikerjakan untuk mengetahui aktivitas SOD dan MDA dalam pengenceran semen entog dengan penambahan alpha-tocopherol setelah penyimpanan pada suhu dingin (4 °C).

MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium lapang jalan Simpang Candi Panggung No 118 Malang dan di laboratorium FAAL. Entog yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 4 ekor ternak entog jantan berumur sekitar 1,5–2 tahun dengan berat 3–3,5 kg. Penampungan semen entog dilakukan pada pagi hari antara pukul 07.00–09.00 WIB dengan frekuensi penampungan 2 kali/minggu.

Semen diencerkan menggunakan larutan pengencer *ringer's* dengan tingkat pengenceran 10 kali. Selanjutnya 5 mg alpha-tocopherol ditimbang dan dilarutkan dalam 5 ml kuning telur (1000 ppm). Kemudian 0,1 ml stok alpha-tocopherol 1000 ppm ditambahkan 9,9 ml *ringer's* (10 ppm). Sebelum diberi perlakuan alpha-tocopherol, sampel dipersiapkan terlebih dahulu dengan menyiapkan 2 ml semen ditambah dengan 18 ml larutan *ringer's*. Masing-masing larutan semen tersebut dibagi menjadi empat bagian sesuai dengan perlakuan sebagai berikut:

- Perlakuan C₁ mengandung 0 ppm (5 ml larutan semen)
- Perlakuan C₂ mengandung 0,2 ppm (4,9 ml stok semen + 0,1 ml stok alpha-tocopherol 10 ppm)
- Perlakuan C₃ mengandung 0,4 ppm (4,8 ml stok semen + 0,2 ml stok alpha-tocopherol 10 ppm)

- Perlakuan C₄ mengandung 0,6 ppm (4,7 ml stok semen + 0,3 ml stok alpha-tocopherol 10 ppm)

Larutan semen disimpan pada suhu 4 °C dengan lama simpan yang berbeda yaitu: 0 (C₁), 60 (C₂), 120 (C₃), dan 180 menit (C₄). Alat yang digunakan antara lain vortex merek Maxi Mix tipe 16700, sentrifuse MLW T5, spektrofotometer UV-vis Shimadzu 1601, tabung *Eppendorf*, kertas tisu, pipet mikro, dan aluminium foil. Sedangkan bahan yang digunakan adalah aquades, xantin, xantin oksidase, NBT (*nitroblue tetrazolium*), PBS, NaOH, KCl, Na-triobarbiturat, dan TCA.

Uji aktivitas SOD dikerjakan dengan menggunakan metode spektrofotometer. Pertama-tama 100 µl sampel semen perlakuan ditambah xantin 100 µl, xantin oksidase 100 µl, NBT 100 µl, dan PBS 600 µl. Kemudian dipanaskan selama 30 menit pada suhu 30 °C dan selanjutnya disentrifugasi. Setelah itu supernatan dipisahkan dan serapannya diamati dengan spektrometer dengan panjang gelombang 580 nm. Kemudian dilakukan pengukuran absorbansinya (Oberley and Spitz, 1985).

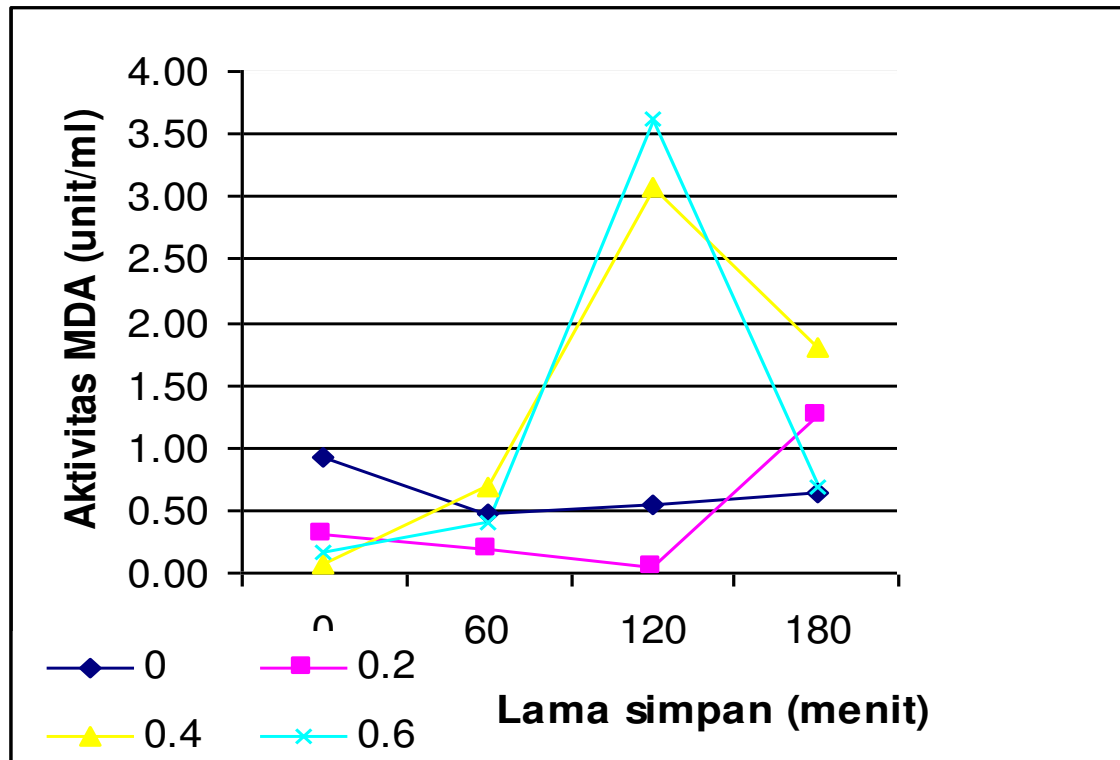
Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimental dengan Rancangan Acak Kelompok (RAK) faktorial dalam pola petak terbagi. Faktor pertama sebagai petak utama adalah lama simpan 0 (A₀); 60 (A₁); 120 (A₂) dan 180 menit (A₃). Faktor kedua sebagai anak petak adalah penambahan alpha-tocopherol 0 (B₀); 0,2 (B₁); 0,4 (B₂) dan 0,6 (B₃) yang disimpan pada suhu 27 °C sehingga terbentuk total empat kelompok (3 kali ulangan) (Stell dan Torrie, 1990).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penambahan alpha-tocopherol menyebabkan peningkatan kadar MDA. Semakin banyak penambahan alpha-

tocopherol yang diberikan dalam pengenceran semen maka semakin menurun kualitasnya. Penambahan alpha-tocopherol menyebabkan peningkatan integritas membran semen. Penurunan

integritas terjadi dengan bertambahnya lama waktu penyimpanan. Aktivitas MDA tertinggi pada penambahan alpha-tocopherol dengan lama simpan berbeda yaitu 0,6; 0,2; 0,4 dan 0 ppm (Gambar 1).



Gambar 1. MDA semen setelah ditambahkan kadar alpha-tocopherol yang disimpan pada suhu 4 °C dengan lama simpan berbeda

Penambahan alpha-tocopherol sebagai antioksidan yang menangkal kerusakan peroksidasi lipid bereaksi dengan lemak tak jenuh dalam semen entog sehingga mengalami oksidasi dan menyebabkan terbentuknya radikal yang bereaksi dengan komponen membran sel dalam proses pengenceran semen entog. Membran sel yang tersusun atas lipid selanjutnya dioksidasi sehingga menyebabkan putusnya ikatan rangkap yang terdapat pada lipid. Hal ini menimbulkan senyawa yang toksis terhadap sel antara lain senyawa aldehid seperti malondialdehid (MDA) (Riadi, 2004).

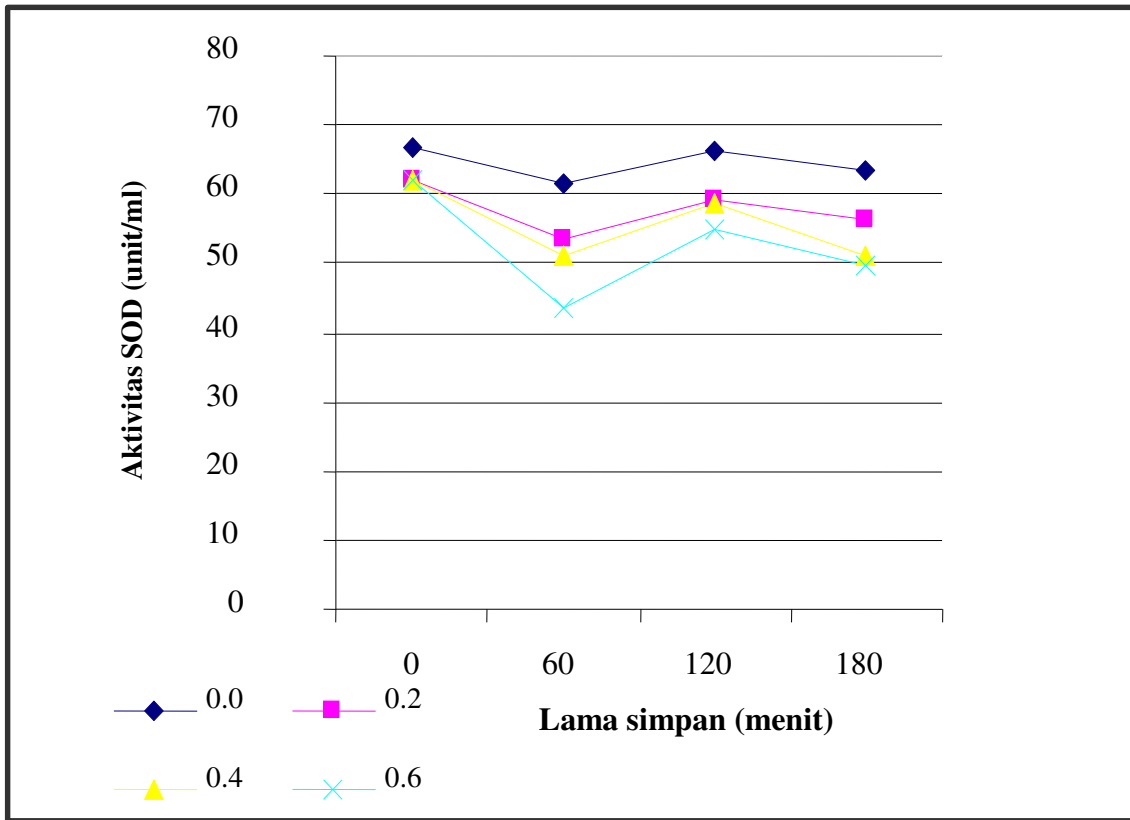
Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan penambahan alpha-

tocopherol menghasilkan penurunan kadar MDA sehingga kadar MDA pada kontrol lebih tinggi dibandingkan perlakuan. Hal ini diduga karena perlakuan penambahan alpha-tocopherol pada suhu 4 °C bereaksi dengan lemak tak jenuh pada pengenceran semen entog sehingga menyebabkan pro-oksidan.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa penambahan kadar alpha-tocopherol berbeda nyata, sedangkan lama simpan dan interaksinya tidak berbeda nyata ($p > 0.05$). Kadar MDA tertinggi ditemukan pada suhu 4 °C tanpa penambahan alpha-tocopherol. Rataan MDA dengan penambahan alpha-tocopherol 0,6 ppm selama penyimpanan 120 menit lebih tinggi

dibandingkan dengan perlakuan yang lain. Ini sesuai dengan pendapat Wresdiyati dkk., (2002) bahwa *malondialdehyde* merupakan produk

akhir dari oksidasi lipid. Tingginya kadar MDA dipengaruhi oleh kadar peroksidasi lipid yang juga menunjukkan jumlah radikal.



Gambar 2. Aktivitas SOD semen setelah ditambahkan alpha-tocopherol yang disimpan pada suhu 4 °C dengan lama simpan berbeda

Superoxida Dismutase (SOD) sebagai enzim antioksidan penting dalam sel bertanggung jawab atas terjadinya kerusakan akibat radikal bebas seperti radikal. Salah satu kerusakan akibat radikal bebas tersebut adalah *reactive superoxida* yang merupakan anion yang diproduksi ketika oksigen kehilangan satu elektronnya. Hal ini terjadi pada proses metabolik normal seperti transformasi katalitik oleh enzim dari berbagai molekul. SOD bertanggung jawab untuk mengkatalisir konversi dari *superoxida* menjadi elemen oksigen dan *hydrogen peroxida*.

Penambahan alpha-tocopherol 0,2 ppm menunjukkan rata-rata aktivitas

SOD tertinggi pada penambahan selama penyimpanan 0 menit (Gambar 2). Sedangkan rata-rata aktivitas SOD terendah terdapat pada penambahan alpha-tocopherol 0,6 ppm selama penyimpanan 60 menit.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa penambahan kadar alpha-tocopherol berbeda nyata, sedangkan lama simpan dan interaksinya tidak berbeda nyata ($p < 0.05$). Namun rata-rata penambahan alpha-tocopherol tanpa penyimpanan dengan penambahan masing-masing 0,2; 0,4 dan 0,6 ppm menghasilkan SOD yang lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan yang disimpan, khususnya pada suhu 4 °C

dengan penambahan alpha-tocopherol 0,2 ppm.

Perlakuan yang menunjukkan bahwa aktivitas SOD pada kontrol lebih tinggi diduga karena pada perlakuan tersebut belum terjadi *stress oksidatif* sehingga SOD tetap tinggi dan belum bekerja melawan radikal bebas. Selain itu, bisa dipengaruhi kesalahan teknis ketika memberikan perlakuan penambahan kadar alpha-tocopherol dan lama simpan berbeda yang disimpan pada suhu 4 °C.

Perlakuan penambahan alpha-tocopherol dan lama simpan dapat menurunkan aktivitas SOD karena sel memiliki superoksida dismutase dan peroksida dalam jumlah yang cukup dalam mempertahankan kerusakan. Ini sesuai pendapat Hammerstedt (1993) yang menyatakan bahwa fungsi alpha-tocopherol dalam pengencer berfungsi sebagai *superoksida dismutase* dan peroksidase yang dapat menghilangkan *anion superoksida* dan meminimalkan kerusakan peroksidatif. Pemberian alpha-tocopherol sebagai antioksidan eksogen dalam pengenceran semen entog tidak terlalu efektif terhadap perlakuan SOD. Hal ini diduga enzim yang terdapat dalam semen entog masih dapat melawan banyaknya oksigen radikal yang merusak dinding sel akibat proses penyimpanan. Dandaker, et al., (2002) menyebutkan bahwa kemampuan organisme aerob bertahan terhadap radikal bebas ditentukan oleh adanya pertahanan organisme tersebut terhadap radikal bebas.

KESIMPULAN

Penelitian ini menyimpulkan bahwa penambahan kadar alpha-tocopherol dalam semen entog sebagai antioksidan tidak memberikan hasil yang efektif dalam pengenceran semen entog tetapi masih dapat mempertahankan

kualitas semen selama proses penyimpanan.

DAFTAR PUSTAKA

- Adisetia, P., O, Tendean, I. G. B., Amitaba and Adimoeja, A. 1978. Treatment of male infertility with adenosin tri phosphate and tocopherol. Prosiding simposium spermatologi Surabaya (Kuncoro Suhadi, ed) p. 298-300.
- Dandaker, S. P., G. D. Nadkani and Punekar, S. 2002. Lipid peroxidation and antioxidant enzymes in male infertility. Brief Report. 48: 186 – 189.
- Halliwell, B., dan Gutteridge, J. M. C. 1999. Free radicals in biology and medicine. 3rd ed. Oxford Univ Press. New York.
- Hammerstedt, H. R. 1993. Maintenance of bioenergetic balance in sperm and prevention of lipid peroxidation: A review of the effect on design of storage preservation systems. Reprod Fertil, 5: 675-690.
- Ibrahim, A. S dan Sakthisekaran, D. 1997. Effect of vitamin E and taurine treatment on lipid peroxidation and antioxidant defense in perchloroethylen-induced cytotoxicity in mice. J. Nutr. Biochem.8: 270-274.
- Linder, M. C. 1992. Nutritional biochemistry and metabolism. Penerjemah: Parakkasi, M. 1992. Biokimia nutrisi dan metabolisme. UI Press. Jakarta.
- Oberly, L.W and D. R. Spitz. 1985. Nitroblue tetrazolium. In Greenwald (ed). CRC handbook of methods for oxygen radical research. CRC Press Boca Raton. Pp.217-220.
- Packer, L. 1995. Oxidative stress, antioxidants, aging and disease, in:

- Cutler, R.G. L. Pancer; J. Bertram and A. Mori. 1995. Oxidative stress and aging. Birkhauser Verlag, Basel Switzerland. Pp. 1-14
- Riadi, S. 2004. Perubahan karakter ejakulat dan antioksidan pada masa reproduksi Kambing Kacang dan Kambing Peranakan Etawah. Disertasi Pascasarjana Unair. Surabaya.
- Sunita, A. 2003. Prinsip dasar ilmu gizi. Penerbit, PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. Hal. 173 – 179.
- Steel, R. G. D. dan Torrie, J. H. 1990. Prinsip dan prosedur statistika: Suatu pendekatan biometrik. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Wresdiyati, T., Astawan, M., Fihriani, D., Adnyane.I. K. M., Novelina, S. dan Aryani, S. 2002. Pengaruh α tokoferol terhadap profil superoksida dismutase dan malondialdehid pada jaringan hati tikus di bawah kondisi stress. Bagian anatomi, histologi dan embriologi. Fakultas Kedokteran Hewan. Bagian biokimia. Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor.